

【第60回 小島三郎記念文化賞】

自然炎症を介した病原細菌感染症の重症化機構の解明

はら ひで き
原 英 樹
Hideki HARA

はじめに

慶應義塾大学医学部 吉村昭彦先生のご厚意により、2019 年から岸本フェローとして小規模ながら研究グループを主宰させていただいた。これが私の PI として最初の（半）独立であった。その経験を活かして、2022 年からは旭川医科大学にて教授職を拝命させていただいている。学ぶことはまだまだ多いが、いろいろな意味で研究は独立してからが本番であり、緊張感のなかにこれまでとは異なる達成感を感じることができる。旭川医科大学は国内最北の医学部なだけに、一番苦勞するのが人集めである。そのための活動として、研究室のホームページ (<https://www.asahikawa-med.ac.jp/dept/mc/microbio/>) を開設したので、多くの人に見てもらえとありがたい（図 1）。本研究に少しでも興味が湧いた研究希望者や企業の方からは是非一報をいただければ幸いである。



図1. 研究室のロゴマーク

「人類の歴史は感染症との闘い」という言葉があるように、感染症は伝染性を示す唯一の疾患であり、有史以来、人々の生活や歴史に大きな影響を与えてきた。なかでも現代社会においては、交通や輸送手段の発達により劇的に人流および物流が活発化したことにともない、人や物とともに微生物も短時間で長距離を移動できるようになったことが感染症の伝播に大きな影響をもたらしている。つまり、気づかぬうちに（発症しないうちに）微生物が広範囲に拡散されやすい環境となってきた。また、環境が変わることで微生物は遺伝子変異などを獲得する機会が増え、それによって種特異性や病原性、薬剤耐性に大きな変化が生じることがしばしば起こっている。

近年、世界の死因を再調査したところ、敗血症の割合ががんよりも多かったという結果も出ていることから、細菌やウイルスによる感染症を克服していくことは、人類に残された課題の1つとも言える。この課題に挑戦すべく、多くの研究者が感染機構や病原機序を解析し、新たな治療法を模索している。そんななか、われわれは自然免疫による炎症応答が病原細菌による感染症を悪化させるという知見を得たのでご紹介させていただく。

I. 免疫応答は常に宿主に益となるのか？

まず結論から述べると、本研究において自然免疫応答の1つとして知られるインフラマソームとよばれる炎症応答が感染症を悪化させることを明らかにしたことから、そうではないことがうかがえる。このような炎症応答が、脳梗塞や心筋梗塞、慢性関節

リウマチなどさまざまな疾患の増悪化に関わることは広く知られている。一方で、炎症応答が感染症を悪化させるという話をすると、すんなりと納得しがたいという方が研究者の間でも散見される。どちらかと言うと、免疫に詳しい研究者ほどそうなのかもしれない。これは、おそらく「免疫」という言葉が「伝染病を免れる」という意味合いのため、免疫応答は病原体を排除しなければならないという固定観念が無意識のうちに生じているのだと思われる。しかしながら、自己免疫疾患の場合にはダメージ関連分子パターン (DAMPs: Damage-Associated Molecular Patterns) が、一方で感染症では病原体関連分子パターン (PAMPs: Pathogen-Associated Molecular Patterns) が炎症応答のトリガーになるという違いはあれども、活性化する受容体が同じであれば類似した免疫応答が活性化される。すなわち、自己免疫疾患などで起こっているような臓器や組織にダメージを与えてしまう炎症応答が、感染症においても起こり得るということである。もっと正確に言うと、微生物は多くの PAMPs を有しているため、感染症では感染防御に機能する炎症応答と病態悪化に働く炎症応答が複数混在している状態と言える。このような複雑な感染炎症応答を詳細に紐解いていけば、今回ご紹介するインフラマソーム応答以外にも病態形成に関わる炎症応答がまだまだ見つかるかもしれない。

II. インフラマソームに特徴的な炎症応答

ヒトの体内に微生物が侵入すると、マクロファージや好中球、樹状細胞といった食食細胞や一部の上皮細胞が異物として認識する。その際に自己分子とそうでないもの、もしくは危険分子とそうでないものを区別するために活躍するのが細胞表面や細胞内に発現しているパターン認識受容体である¹⁾。自然免疫センサーとして機能するパターン認識受容体はこれまでに数多く同定されており、細胞膜上に発現している Toll-like receptor (TLR) と C-type lectin receptor (CLR)、細胞質に発現している Nod-like receptor (NLR)、RIG-I-like receptor (RLR)、DNA sensors、AIM2-like receptor (ALR) の6つにカテゴリー分けされている (図2)。そのなかでインフラマソームを活性化できる受容体は、NLR と ALR に分類される限られた分子だけである。大部分の受

容体は異物を認識すると細胞内でアダプター分子と会合し、nuclear factor-kappa B (NF- κ B) や interferon regulatory factor (IRF) などの転写因子を活性化することで、インターロイキンやインターフェロンを含む炎症性サイトカインの遺伝子発現を上昇させる²⁾。特に細胞表面に発現する受容体は、病原性に関わらずほぼすべての微生物を認識することで、いち早く異物の存在を全身に伝達し、自然免疫を活性化する役割を担っている。

一方で、インフラマソーム応答を活性化できる受容体は、すべて細胞質に発現している。そのため、インフラマソームを活性化するには基本的に微生物リガンドが細胞内に曝露される必要がある。すなわち、微生物が細胞内に侵入する、細胞膜を傷害する、微生物リガンドを細胞内に注入する分泌装置を有する、などの病原性を示す微生物だけがインフラマソームを活性化し得るというわけである。インフラマソームとは、細胞内受容体、アダプター分子、システインプロテアーゼであるカスパーゼ1が会合することで細胞内に形成されるタンパク質複合体を指しており、細胞内受容体が異物を認識すると転写因子を活性化するのではなく、インフラマソーム複合体を形成することでタンパク質分解酵素であるカスパーゼ1を活性化させる³⁾。カスパーゼ1は CARD

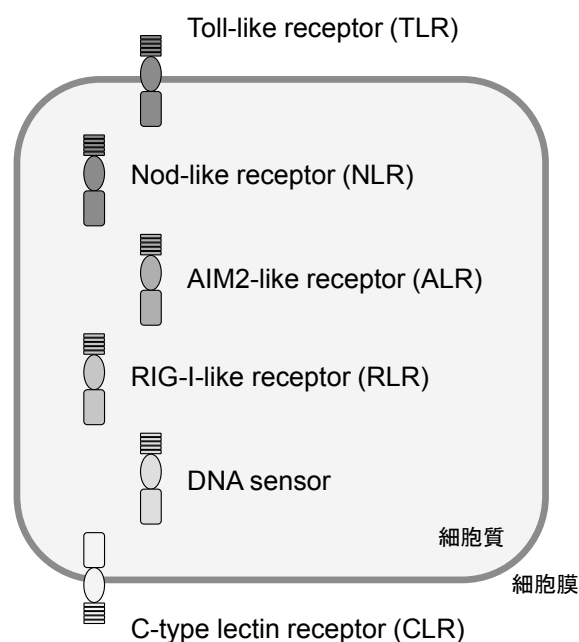


図2. 代表的なPattern Recognition Receptors (PRRs)

ドメインを有しているが、多くの細胞内受容体は CARD ドメインではなく PYRIN ドメインを有している。そのため、ほとんどの細胞内受容体はカスパーゼ 1 と直接会合することはできず、CARD ドメインと PYRIN ドメインを有するアダプター分子として apoptosis-associated speck-like protein containing a CARD (ASC) を必要とする。さらに、病理的な条件下では、ASC は重合化することでインフラマソームとは異なる複合体パイロソーム (pyroptosome, 別名 ASC speck) を形成することが知られており^{4,5)}、インフラマソームよりもさらにカスパーゼ 1 を効率的に活性化させる炎症プラットフォームとして機能する (図 3)。非常に多様な分子が活性型カスパーゼ 1 によってプロセッシングされる基質として報告されているが、感染免疫で特に重要なものがガスダーミン D、IL-1 β 前駆体、IL-18 前駆体である。これら

はいずれも非活性型として発現しており、活性型カスパーゼ 1 によってプロセッシングされることで生物活性を示す活性型へと変換される。カスパーゼ 1 によって切断されたガスダーミン D の N 末タンパク質は、細胞膜上に集積し重合化することで孔を形成する。これによって細胞膜に穴が開き、細胞内の炎症性メディエーターが細胞外に放出されるプログラム細胞死パイロトーシスが惹起される。IL-1 β や IL-18 は感染症などで馴染みのある炎症性サイトカインであるが、発現しただけでは生物活性を示すことができない。炎症応答を誘導するためには、これらの前駆体がカスパーゼ 1 で切断され成熟化する必要がある。また、他の炎症性サイトカインとは異なり、シグナルペプチドを有していないことから、インフラマソーム活性化初期においてはガスダーミン D が形成する細胞膜孔を通して細胞外へと分泌される

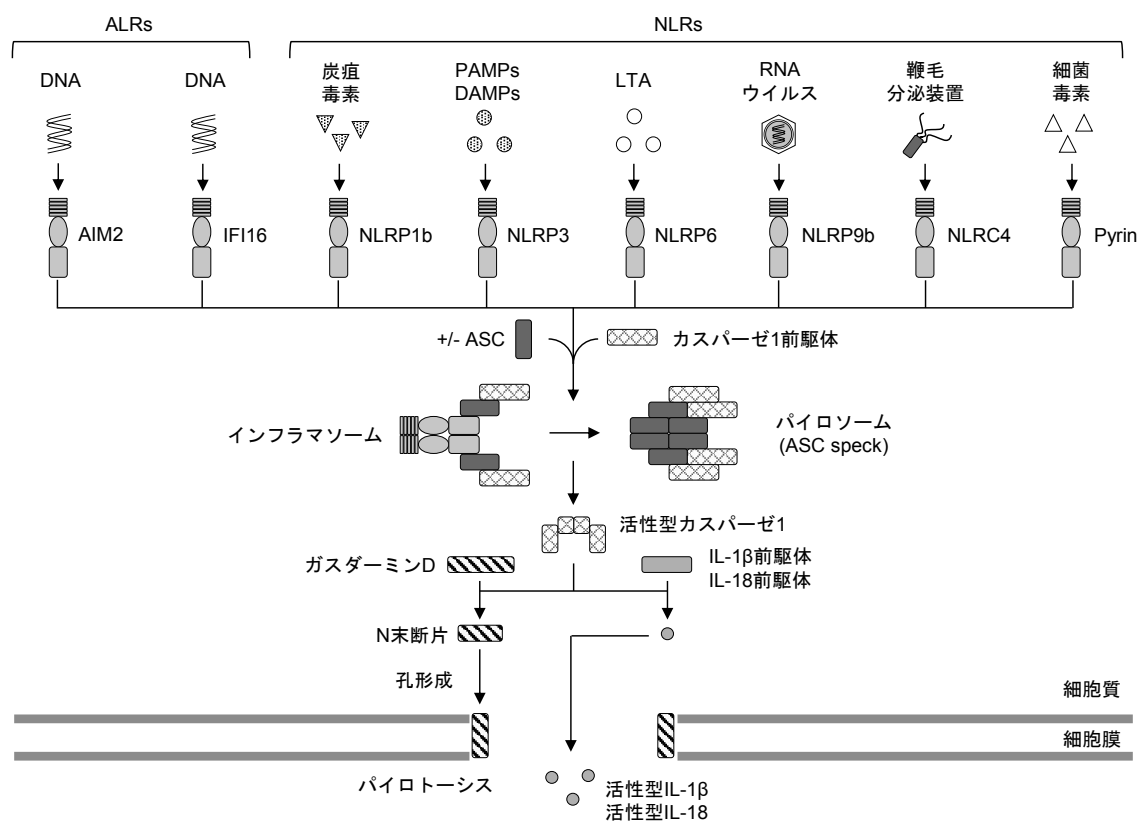


図3. 感染症におけるインフラマソーム応答の概要図

これまでに8種類の細胞内受容体が同定されており、それぞれ特異的な微生物リガンドを認識することでASCやカスパーゼ1前駆体をリクルートし、インフラマソーム複合体を形成する。これによりカスパーゼ1が活性化するが、パイロソームが形成されるとさらに効率よく活性化する。活性型カスパーゼ1がガスダーミンDを切断すると細胞死パイロトーシスが誘導される。また、炎症性サイトカインであるIL-1 β 前駆体やIL-18前駆体も切断されることで活性型となり細胞外に分泌される。

文献8)を参考に作成

^{6,7)}。インフラマソームを活性化できる細胞内受容体はこれまでに8種類ほど見つかっており、おのおのが特異的な微生物リガンドを認識することで、多くの感染症でインフラマソームを介した炎症応答が誘導されることが報告されている（図3）⁸⁾。その一方で、細胞内受容体以降のシグナル伝達経路はインフラマソーム応答に共通する部分が多い。そのため、菌種によって活性化できるインフラマソーム受容体は異なるが、結果的に誘導される炎症応答の多くはこれらの事象に収束すると考えられている。

Ⅲ. 自然免疫による感染重症化機序

それでは、なぜインフラマソームが活性化すると感染症が悪化するのか？そのメカニズムの一端は他

の疾患でも報告されているように、インフラマソームが細胞死と炎症応答を亢進することで組織や臓器が損傷し、生体にダメージが蓄積することに起因していると考えられる。たとえば、リステリアや黄色ブドウ球菌といった病原細菌をマウスに感染させると、脾臓や肝臓などの標的臓器に多数の膿瘍が形成され損傷しているのがわかるが、ASCなどを欠損したインフラマソーム不全マウスにこれらの病原細菌を感染させても損傷が起こらない、もしくは軽度の損傷しか観察されない（図4）。その結果、ほとんどの野生型マウスは死亡する菌数が感染した場合でもASC欠損マウスは生き残ることができる（図4）。われわれの報告に加えて、海外の他の研究グループからも、黄色ブドウ球菌、肺炎球菌、セレウス菌といったさまざまな病原細菌による感染病態が

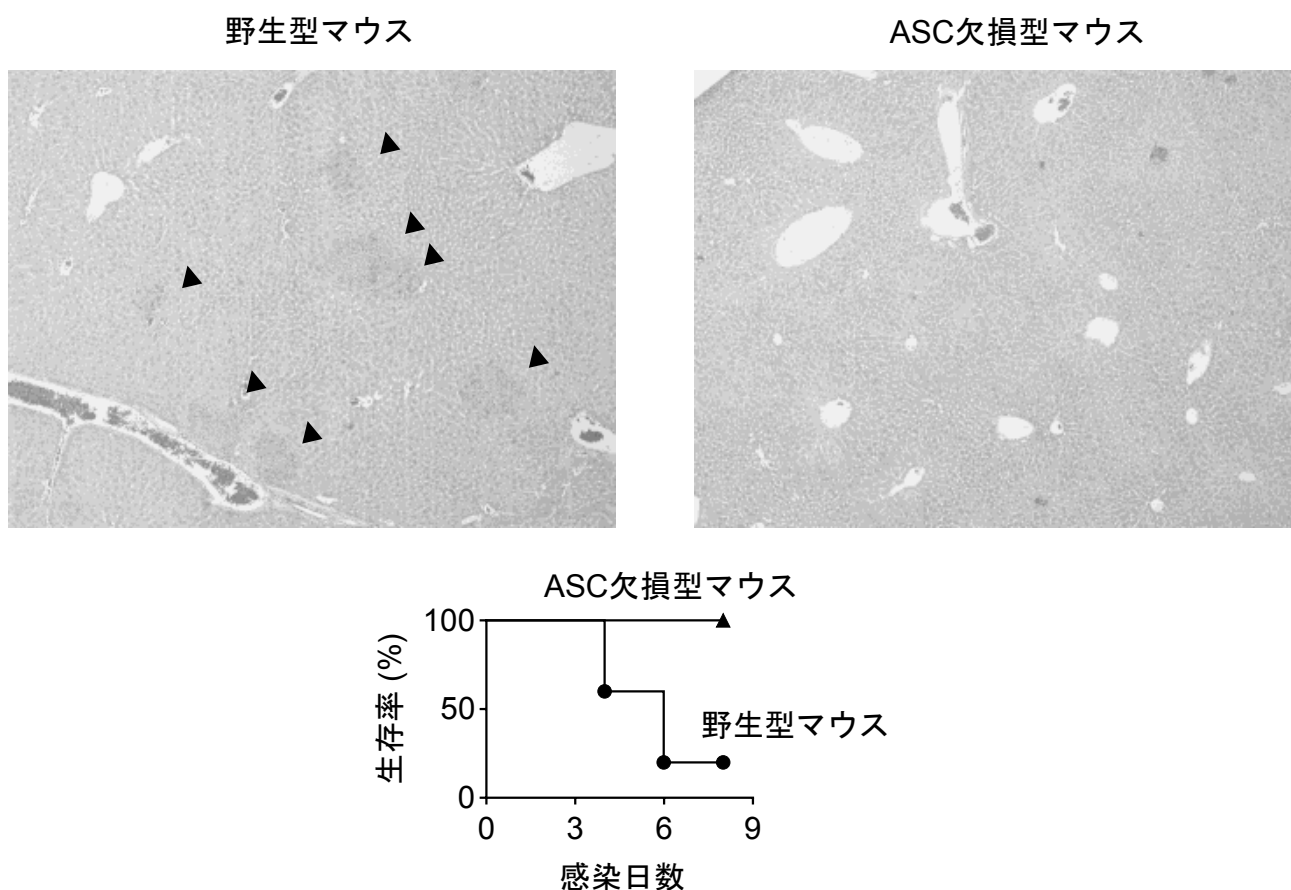


図4. リステリア感染マウスの肝臓所見と生存率

リステリアをマウスに感染させ2日後に肝臓を摘出し、HE染色で病理像を観察した。その結果、野生型マウスでは膿瘍が多く観察されるのに対して、ASC欠損型マウスでは減少することが判明した。矢頭は膿瘍を示す。感染状態が継続すると右図のように野生型マウスの多くは死に至るのに対して、インフラマソームが活性化しないASC欠損型マウスでは全頭が生存した。

インフラマソーム依存的に重症化するという報告が相次いでいる^{9,14)}。さらに、ヒトの臨床検体でも類似した報告があり、新型コロナウイルスに感染した肺では、インフラマソームが強く活性化し、なかでも非生存者ではIL-18レベルが高くなっていることが示されている¹⁵⁻¹⁷⁾。インフラマソームが活性化すると、パイロトーシスによって細胞内の炎症性メディエーターが細胞外に放出されることから、インフラマソーム非依存的な受容体が活性化するよりもひときわ強い炎症応答が惹起されるため、生体への負荷も大きいと考えられる。炎症性メディエーターのなかでもIL-18はリステリア、黄色ブドウ球菌、新型コロナウイルスの重症化に関与することが明らかとなっていることから、病原体の垣根を超えて幅広い感染症に影響を及ぼしている。その一方で、最近の研究からIL-18非依存的に重症化する感染症も存在することが明らかになりつつあることから、病原体に関わらず共通する分子機序と各病原体に特異的な分子機序を区別して整理する必要がある。

また、上記のメカニズムに加えて、感染症の場合には臓器内で増殖する病原菌数もインフラマソーム炎症によって増加することをわれわれは見出している(図5)^{9,18)}。これは病原菌が自然免疫を誘発することにより、増殖に適した炎症環境を生体内に構築していると考えられることもできる。外界とは異なり、生体内では微生物が生存し増殖するための栄養素などが制限されている。この限られた環境で生き抜く

ためには宿主から栄養素を奪うほかない。細胞死が誘導される炎症応答が起こると死細胞からそれらの栄養素が漏出することが想定される。また、単純に宿主細胞が死ぬことにより、周辺の細胞に病原菌が拡散しやすいのかもしれない。詳細なメカニズムについては現在解析を進めているところであり、興味深い新たな知見が得られると期待している。インフラマソーム応答が感染症を悪化させるという着想は、最近になってようやく定着してきたことから、自然免疫を利用した微生物の病原戦略が今後どこまで詳細に解明されていくのか注目したい。

Ⅳ. 今後の展望

ここまで、自然免疫応答による感染症の重症化機構を概説してきた。このように感染病態を紐解いていくことで、病原菌が宿主応答をかいぐり、ときにはハイジャックすることで、巧妙に宿主生体内で生き残る戦略が見えてくる。このような病原体と宿主の相互作用を解明することは、基礎医学研究としての学術的な見識が深まるだけでなく、より感染症の実態に即した知見が得られることで臨床医学研究への橋渡し研究に発展することも期待される。

1928年にペニシリンが発見されて以降、細菌を狙い撃ちすることができる「魔法の弾丸」として抗生物質が感染治療の現場で重宝されてきた。一方で、抗生物質の頻用や乱用が細菌の遺伝子変異を誘導

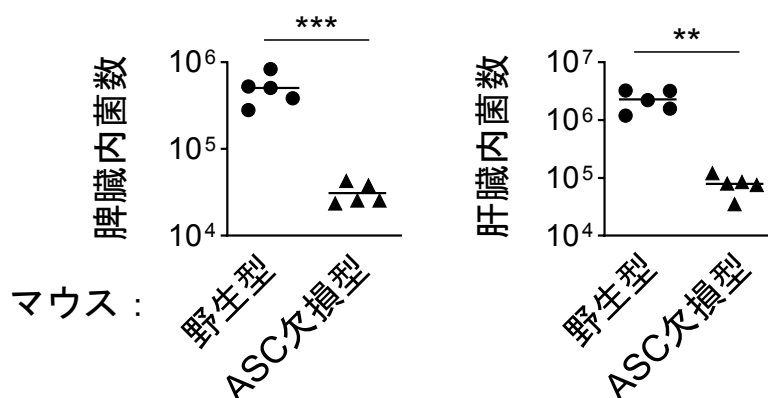


図5. リステリア感染マウスにおける臓器内菌数

リステリアをマウスに感染させ4日後に各臓器を摘出、ホモジナイズし寒天培地で培養することで臓器内の生菌数を測定した。野生型マウスと比較して、ASC欠損型マウスでは臓器内菌数が減少することがわかる。

し、新たな脅威となる薬剤耐性菌を生み出す結果を招いてしまった。国際的にも日本は臨床検出菌株の薬剤耐性率が高いことから、薬剤耐性菌問題は世界に率先して取り組むべき国家課題の1つと言える。しかしながら、「魔法の弾丸」の効果が驚異的であっただけに、感染症に対する新たな治療法の開発研究、ひいては感染症研究全体が他の疾患研究と比較して軽視される傾向にあったと思われる。その結果、薬剤耐性菌が国際的課題として取り上げられ10年以上経過した今でも薬剤耐性菌に対する新たな治療方は確立されていない。新型コロナウイルスが流行した際にも、日本が新薬開発に出遅れた理由も似たような背景があるのかもしれない。パンデミックが起こってから研究をスタートしても手遅れになるのはわかりきったことである。これらの経験を活かして、薬剤耐性菌問題を含めた今後（もしくはすでに）必要とされるさまざまな対策も手遅れとならないように、日頃からの研究活動が滞らない政策がとられることを願うばかりである。アメリカの研究資金は潤沢であり、地方大学でも研究に支障が出ることはあまりないが、日本の多くの地方大学の研究環境は厳しいものであると感じている。それでも医学部でPIを任されているからには、なんとしてでも将来の医療をよいものにしていくことが使命だと思い、日々の研究活動と学部生および大学院生の教育に専念している。

おわりに

私は病原体を用いた感染症研究を希望して、京都大学医学部でリステリアや結核菌などの細胞内寄生菌の研究をご専門にされていた光山正雄先生の研究室の門を叩いた。そこで博士号を取得するために取り組んだのがリステリアの感染実験である。リステリア感染に対する獲得免疫の成立にはIFN- γ が重要である。一方で、IFN- γ の産生にはリステリアの病原因子である listeriolysin O (LLO) が必須であった。なぜ病原因子が獲得免疫を積極的に誘導するのか？というのがオリジナルの問いであり、そこからLLOがIFN- γ 産生誘導因子の1つであるIL-18産生を惹起すること、すなわち本病原因子がインフラマソーム炎症を亢進することに辿り着いた。当初は予想もしていなかったが、このIL-18がマルチファンクショ

ナルなサイトカインであり、IFN- γ 産生を誘導する傍ら、感染臓器における菌の増殖を亢進していたのである。留学を機に研究テーマを大きく変えることもできたが、いま思えば異なる分野の実験手技を学んで、それをオリジナルの研究テーマに取り入れ成熟させていったことがよかったように思える。また、他分野の研究室に所属したことで、脳梗塞やアルツハイマー病、がんなど感染症とは異なる疾患の研究者と密に交流できたことも、私自身の研究の舵取りをする上でよい経験となった。冒頭で軽く触れたように、インフラマソームは感染症だけでなく、脳神経系疾患や心血管系疾患、自己免疫疾患、悪性腫瘍など幅広い炎症をともなう疾患との関連性が報告されている¹⁹⁾。インフラマソームに着目した感染症治療薬を開発する過程で、もしかすると別の疾患にも使える薬剤が得られるかもしれないことを期待しているので、感染症研究者だけでなく他分野からの研究者の積極的な共同研究を是非ともお願いしたい。

謝 辞

このたびは栄誉と歴史のある第60回小島三郎記念文化賞に選出いただき、黒住医学研究振興財団の関係者の皆様、選考委員の先生方、またご推薦いただいた西川祐司学長に心より御礼を申し上げます。

研究者として独立するまでご指導いただきました恩師の先生方をはじめとして、このたびの受賞に関わる研究をサポートいただいたすべての皆様にこの場をお借りして深く感謝いたします。また、2019年に慶應義塾大学医学部で立ち上げた研究グループのメンバー、および2022年に赴任した旭川医科大学医学部感染症学講座微生物学分野で実験に勤しむ研究室メンバーの日々の努力と協力に深謝の意を表します。

文 献

- 1) ao X. Self-regulation and cross-regulation of pattern-recognition receptor signalling in health and disease. *Nature Reviews Immunology*. 2016 ; 16(1) : 35-50.
- 2) Beutler B. Inferences, questions and possibilities in Toll-like receptor signalling. *Nature*. 2004 ; 430(6996) : 257-263.
- 3) Man SM, Kanneganti TD. Regulation of inflammasome

- activation. *Immunological Reviews*. 2015 ; 265(1) : 6-21.
- 4) Fernandes-Alnemri T, Wu J, Yu JW, et al. The pyroptosome: a supramolecular assembly of ASC dimers mediating inflammatory cell death via caspase-1 activation. *Cell Death & Differentiation*. 2007 ; 14(9) : 1590-1604.
 - 5) Hara H, Tsuchiya K, Kawamura I, et al. Phosphorylation of the adaptor ASC acts as a molecular switch that controls the formation of speck-like aggregates and inflammasome activity. *Nature Immunology*. 2013 ; 14(12) : 1247-1255.
 - 6) Kayagaki N, Stowe IB, Lee BL, et al. Caspase-11 cleaves gasdermin D for non-canonical inflammasome signalling. *Nature*. 2015 ; 526(7575) : 666-671.
 - 7) Shi J, Zhao Y, Wang K, et al. Cleavage of GSDMD by inflammatory caspases determines pyroptotic cell death. *Nature*. 2015 ; 526(7575) : 660-665.
 - 8) Xue Y, Enosi Tuipulotu D, Tan WH, et al. Emerging Activators and Regulators of Inflammasomes and Pyroptosis. *Trends in Immunology*. 2019 ; 40(11) : 1035-1052.
 - 9) Hara H, Seregin SS, Yang D, et al. The NLRP6 Inflammasome Recognizes Lipoteichoic Acid and Regulates Gram-Positive Pathogen Infection. *Cell*. 2018 ; 175(6) : 1651-1664.
 - 10) Tao Q, Xu D, Jia K, et al. NLRP6 Serves as a Negative Regulator of Neutrophil Recruitment and Function During *Streptococcus pneumoniae* Infection. *Frontiers in Microbiology*. 2022 ; 13 : 898559.
 - 11) Ghimire L, Paudel S, Jin L, et al. NLRP6 negatively regulates pulmonary host defense in Gram-positive bacterial infection through modulating neutrophil recruitment and function. *PLOS Pathogens*. 2018 ; 14(9) : e1007308.
 - 12) Mathur A, Feng S, Hayward JA, et al. A multicomponent toxin from *Bacillus cereus* incites inflammation and shapes host outcome via the NLRP3 inflammasome. *Nature Microbiology*. 2019 ; 4(2) : 362-374.
 - 13) Krause K, Daily K, Estfanous S, et al. Caspase-11 counteracts mitochondrial ROS-mediated clearance of *Staphylococcus aureus* in macrophages. *EMBO reports*. 2019 ; 20(12) : e48109.
 - 14) Paudel S, Ghimire L, Jin L, et al. NLRP4 suppresses IL-17A-mediated neutrophil-dependent host defense through upregulation of IL-18 and induction of necroptosis during Gram-positive pneumonia. *Mucosal Immunology*. 2019 ; 12(1) : 247-257.
 - 15) Sefik E, Qu R, Junqueira C, et al. Inflammasome activation in infected macrophages drives COVID-19 pathology. *Nature*. 2022 ; 606(7914) : 585-593.
 - 16) Pan P, Shen M, Yu Z, et al. SARS-CoV-2 N protein promotes NLRP3 inflammasome activation to induce hyperinflammation. *Nature Communications*. 2021 ; 12(1) : 4664.
 - 17) Rodrigues TS, de Sá KSG, Ishimoto AY, et al. Inflammasomes are activated in response to SARS-CoV-2 infection and are associated with COVID-19 severity in patients. *Journal of Experimental Medicine*. 2021 ; 218(3) : e20201707.
 - 18) Tanishita Y, Sekiya H, Inohara N, et al. *Listeria* toxin promotes phosphorylation of the inflammasome adaptor ASC through Lyn and Syk to exacerbate pathogen expansion. *Cell Reports*. 2022 ; 38(8) : 110414.
 - 19) Strowig T, Henao-Mejia J, Elinav E, et al. Inflammasomes in health and disease. *Nature* 2012 ; 481(7381) : 278-286.